



dr hab., prof. UAM Mirosława Dabert
Wydział Biologii
Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
ul. Uniwersytetu Poznańskiego 6, 61-614 Poznań
Tel. 61 829 5738; E-mail: mirkad@amu.edu.pl

Akceptuję
H D

Recenzja
rozprawy doktorskiej Pana mgr. Kacpra Guglasa pt.
„Biologiczna rola YRNA w płaskonabłonkowych
nowotworach głowy i szyi”

Podstawą formalną recenzji jest pismo Wiceprzewodniczącej Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego z dnia 29 czerwca 2023 roku. Praca została wykonana w Pracowni Genetyki Nowotworów w Wielkopolskim Centrum Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie w Poznaniu. Promotorem rozprawy jest Pani dr hab. n. biol. Katarzyna Monika Lamperska, a promotorem pomocniczym Pan dr n. med. Tomasz Sebastian Kolenda.

Na pracę doktorską zatytułowaną „Biologiczna rola YRNA w płaskonabłonkowych nowotworach głowy i szyi” składa się cykl 3 publikacji:

1. Guglas K, Kolenda T, Stasiak M, Kopczyńska M, Teresiak A, Ibbs M, Bliźniak R, Lamperska K. YRNAs: New Insights and Potential Novel Approach in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Cells*. 2020 May 21;9(5):1281. doi: 10.3390/cells9051281. PMID: 32455790; PMCID: PMC7290662. Impact factor: 6,600. Punkty MEiN: 140.
2. Guglas K, Kołodziejczak I, Kolenda T, Kopczyńska M, Teresiak A, Sobocińska J, Bliźniak R, Lamperska K. YRNAs and YRNA-Derived Fragments as New Players in Cancer Research and Their Potential Role in Diagnostics. *Int J Mol Sci*. 2020 Aug 8;21(16):5682. doi: 10.3390/ijms21165682. PMID: 32784396; PMCID: PMC7460810. Impact factor: 5,924. Punkty MEiN: 140.
3. Guglas K, Kolenda T, Kozłowska-Masłoń J, Severino P, Teresiak A, Bliźniak R, Lamperska K. The Impact of YRNAs on HNSCC and HPV Infection. *Biomedicines*. 2023 Feb 23;11(3):681. doi: 10.3390/biomedicines11030681. PMID: 36979661; PMCID: PMC10045647. Impact factor: 4,757. Punkty MEiN: 100.

Ocena formalna

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska jest osiągnięciem naukowym, na które składa się spójny tematycznie cykl trzech publikacji naukowych. Rozprawa ma poprawny układ dla tego typu prac: zawiera wyczerpujący wykaz stosowanych skrótów (choć brakuje w nim jednego skrótu – *YRNA*), streszczenie w języku polskim i angielskim, wstęp, założenia i cel pracy, piśmiennictwo, publikacje, w których zawarto wyniki badań, podsumowanie i wnioski, opinię Komisji Bioetycznej oraz oświadczenia współautorów publikacji składających się na cykl.

Wszystkie publikacje składające się na pracę doktorską zostały opublikowane w latach 2020-2023 w czasopiśmie z listy JCR o łącznym współczynniku wpływu $IF = 17,281$. Wg bazy Scopus prace te do dziś były cytowane 16 razy (bez autocytowań), co oznacza, że już weszły do obiegu naukowego. Wszystkie publikacje są wieloautorskie i zawierają oświadczenia współautorów o ich udziale w powstaniu pracy, które wskazują na decydującą rolę Doktoranta w formułowaniu hipotez badawczych, planowaniu badań, analizach danych i interpretacji wyników oraz w redagowaniu manuskryptów. We wszystkich pracach Doktorant jest pierwszym autorem i autorem korespondencyjnym, w jednej pracy razem z Panią Promotor. Parametry bibliometryczne prac składających się na rozprawę doktorską są wysokie, a oświadczenia współautorów jednoznacznie potwierdzają wiodący udział Doktoranta w badaniach i w powstaniu publikacji.

Rozprawa doktorska została przygotowana starannie, choć w kilku przypadkach zdarzyły się potknięcia językowe lub redakcyjne (np. na str. 31 nie wiadomo z czym szukano korelacji w przypadku cech kliniczno-patologicznych, w publikacjach przedstawia się wyniki analiz, zamiast „opisywania analiz” i czy nie powinniśmy mówić o górnym odcinku przewodu oddechowo-pokarmowego, a nie powietrzno-pokarmowego?). Układ pracy jest logiczny i przejrzysty. W krótkim wstępie Autor przedstawia stan wiedzy na temat *YRNA* i płaskonabłonkowych nowotworów głowy i szyi oraz przesłanki, które go skłoniły do podjęcia badań. Autor nie stawia hipotez, co wynika z podjęcia się badań nowatorskich w obszarze, który praktycznie nie był zbadany. Stąd dość ogólny cel pracy (określenie roli biologicznej) i liczne cele cząstkowe, które w istocie są planem badań. W rozdziale Podsumowanie i wnioski Doktorant streszcza swoje wyniki omawiając krótko każdą z publikacji. Wyników tych jest bardzo wiele, część wyników badań eksperymentalnych znalazła (lub nie) potwierdzenie w kolejnych badaniach. Rezultatów jest tak wiele, że szkoda, iż Autor nie zamieścił krótkiego podsumowania wszystkich wyników, z zaznaczeniem najistotniejszych, które uważa za dowiedzione i tego, co Jego zdaniem wymaga dalszych badań. Rozdział „Opinia Komisji Bioetycznej” w rzeczywistości tą opinią nie jest; jest to oświadczenie o braku przesłanek o zaliczeniu pracy do eksperymentu medycznego i wymogu dodatkowej zgody Komisji Bioetycznej i zawiera informację, że wniosek do Komisji Bioetycznej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o wydanie stosownej opinii został wysłany w dniu 23.05.2023. Dokument ten nie ma podpisów Doktoranta i Promotora, ale domyślam się, że skoro praca została przyjęta, to spełnia wymogi stawiane w tym zakresie.

Te nieliczne uwagi dotyczą streszczenia, które *de facto* nie podlega ocenie, dlatego nie mają wpływu na moją jednoznacznie pozytywną ocenę formalną rozprawy doktorskiej Pana mgr. Kacpra Guglasa.

Ocena merytoryczna

Tematyka rozprawy doktorskiej jest związana z określeniem biologicznej roli krótkich niekodujących cząsteczek RNA w różnych typach płaskonabłonkowych nowotworów głowy i szyi (HNSCC, Head and Neck Squamous Cell Carcinoma). Podjęty temat ma duże znaczenie zarówno naukowe jak i medyczne. Waga naukowa wynika między innymi z podjęcia tematu związanego z krótkimi niekodującymi RNA, których funkcje w ekspresji genów i funkcjonowaniu komórki są dopiero rozpoznawane i jest na tym polu wiele do odkrycia. Z kolei o dużym znaczeniu medycznym świadczy wybrany model badawczy: płaskonabłonkowe nowotwory głowy i szyi ze względu na swoją heterogenność charakteryzują się dużą opornością na leczenie oraz wysoką śmiertelnością. Znalazienie nowych celów terapeutycznych i biomarkerów chorobowych dla HNSCC jest niezwykle istotne.

W swojej rozprawie Doktorant skupił uwagę na YRNA. Są to cząsteczki krótkich niekodujących RNA o swoistej strukturze, które mają dwojaką funkcję – są represorami białka Ro60 oraz inicjują replikację DNA. Autor skupił się na tych cząsteczkach ze względu na to, że ulegają nadekspresji w niektórych ludzkich nowotworach. Aby zrealizować główny cel pracy, czyli określić rolę YRNA w płaskonabłonkowych nowotworach obszaru głowy i szyi, Autor rozpoczął od sprawdzenia poziomu ekspresji YRNA w komórkach HNSCC i tkankach pacjentów ze zdiagnozowaną chorobą HNSCC w celu odkrycia korelacji określonych YRNA (YRNA1, YRNA3, YRNA4 i/lub YRNA5) z parametrami kliniczno-patologicznymi. Autor odkrył znacząco obniżony poziom ekspresji YRNA1 w liniach komórkowych i tkankach nowotworowych HNSCC w porównaniu do kontrolnej linii komórkowej i zdrowych tkanek pacjentów. Autor nie znalazł istotnych statystycznie powiązań YRNA z parametrami kliniczno-patologicznymi, poza zaskakującym odkryciem podwyższonej ekspresji YRNA1 w przypadku infekcji wirusem HPV (typ 16), który jest istotnym czynnikiem rozwoju HNSCC. To odkrycie, które bazowało na danych udostępnionych w bazie TCGA (The Cancer Genome Atlas), skłoniło Doktoranta do przeprowadzenia znacznie szerszego badania, obejmującego dane na temat ekspresji >30 tys. genów, które zostały wygenerowane podczas badań na temat roli HPV w diagnozowaniu i prognostyce HNSCC dla 269 pacjentów, w tym 73 ze stwierdzonym zakażeniem HPV. Przeprowadzone badanie pozwoliło potwierdzić związek wysokiej ekspresji YRNA1 z zakażeniem wirusem HPV i odpowiedzią immunologiczną na chorobę nowotworową, poprzez wykazanie korelacji ekspresji YRNA1 z genami związanymi z zakażeniem wirusowym oraz procesami odpornościowymi gospodarza. Wcześniej Doktorant odkrył, że ekspresja YRNA1 jest powiązana z ekspresją wielu genów zaangażowanych w podstawowe procesy związane z rozwojem raka, w tym cyklem komórkowym, apoptozą i przerzutowaniem. Wyniki te zostały przez Doktoranta potwierdzone eksperymentalnie, przez sekwencjonowanie transkryptomu linii komórkowej zmodyfikowanej w kierunku nadekspresji YRNA1.

Wykazanie wpływu YRNA1 na powstanie i rozwój HNSCC, w tym powiązanie jego wysokiej ekspresji z lepszym prognozowaniem przebiegu choroby, a co za tym idzie znalezienie w YRNA1 biomarkera dla tej choroby, uważam za najważniejsze osiągnięcie pracy doktorskiej. Nie jest to jednak osiągnięcie jedyne. Doktorant wykazał również powiązania między różnymi YRNA a stadiami rozwoju nowotworu i prognozowaniem przeżycia: wykrył, że YRNA1 i YRNA3, w przeciwieństwie do YRNA5, korelują dodatnio z bardziej zaawansowanym stadium nowotworu. Doktorant zwrócił uwagę na sprzeczne rezultaty dotyczące roli YRNA 4 i YRNA5 jakie uzyskał w swoich badaniach i sugeruje, że może to wynikać z „pochodzenia pacjentów” w obu badaniach, ale głębiej tego nie

wyjaśnia. Warto przedyskutować ten temat w trakcie obrony. Podobnie jestem ciekawa opinii Doktoranta na temat wydawałoby się sprzecznych obserwacji – z jednej strony YRNA1 ma znacznie obniżony poziom ekspresji w liniach komórkowych HNSCC i jego wysoka ekspresja wiąże się z lepszym prognozowaniem przebiegu choroby, z drugiej strony, co wydaje się w sprzeczności z poprzednimi obserwacjami, wykazano, że im wyższa ekspresja YRNA1, tym bardziej agresywny podtyp nowotworu.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska wnosi wiele wartościowych, często szczegółowych wyników, które zostały uzyskane z wykorzystaniem adekwatnych i nowoczesnych metod biologii molekularnej i bioinformatycznych. Szkoda, że w rozdziale Podsumowanie i wnioski na końcu zabrakło krótkiego podsumowania całości rozprawy, z wypunktowaniem i uogólnieniem najważniejszych rezultatów. Nie zmienia to faktu, że praca jest autentycznie nowatorska, wnosi nową wiedzę w obszarze dotąd praktycznie niezbadanym, na co jasno wskazuje przegląd danych w bazie PubMed. Moja ogólna ocena merytoryczna przedstawionej rozprawy doktorskiej jest bardzo wysoka.

Wniosek końcowy

Uważam, że rozprawa doktorska Pana mgr. Kacpra Guglasa wyróżnia się wagą naukową podjętej tematyki, wykazuje warsztatową biegłość Doktoranta, umiejętność stawiania hipotez, planowania i realizacji badań naukowych i dyskusowania uzyskanych wyników. O dojrzałości naukowej Doktoranta świadczy Jego całkowity dorobek, na który składa się 25 publikacji w bazie SCOPUS, które zostały 346 razy zacytowane, $h=12$ (268 bez autocytowań, $h=9$). Dodatkowo, o dużej wartości rozprawy doktorskiej świadczy ranga publikacji zawartych w cyklu, a także ich wejście do obiegu naukowego, odzwierciedlone w cytowaniach.

Stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1668) i wnioskuję do Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie Pana mgr. Kacpra Guglasa do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie, ze względu na nowatorskość i wysoką wartość naukową rozprawy doktorskiej, potwierdzoną publikacjami, wnioskuję o jej wyróżnienie stosowną nagrodą.

Poznań, 17 sierpnia 2023 r.

